

ПОДСЕКЦИЯ «ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ»

Устные доклады

Aluminium effect on activity of some antioxidant enzymes in buckwheat leaves Smirnov Oleksandr Evgenovych

Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine, plantaphys@gmail.com

There is an evidence that aluminium toxicity can cause excessive generation and/or accumulation of reactive oxygen species (ROS). To date extensively accepted that ROS are responsible for biopolymers various stress-induced damage and disrupt majority cellular mechanisms in plants. Superoxide dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) and catalase (CAT, EC 1.11.1.6) together with low-molecular mass antioxidants act as the main defense against ROS produced in various parts of plant cells. Phenylalanine ammonia-lyase (PAL, EC 4.3.1.5) is a key enzyme in synthesis of phenolic compounds equipped in plants possess of antioxidant activity.

Seeds of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench.) were germinated in the dark at 25°C in Petri dishes with deionized water. Plants were grown in sand culture in controlled conditions. After 7 days the nutrient solution was contributed by aluminium (50 µM). Each day the solutions with Al were adjusted to a pH of 4.5. For investigation of enzyme (SOD, CAT and PAL) activity were used 17 day leaves of controlled and treatment plants.

Both SOD and CAT are important enzymes associated with antioxidant defense system in plant cells. Compared to the control, the SOD activity was increased by 2 times in treatment leaves. The CAT activity was inhibited with no significant difference ($p \leq 0.05$) – 4%. PAL showed a significantly higher activity under aluminium toxicity – by 2.5 times higher relative to control level. This investigation showed that the increases of SOD and PAL activity, not significant decrease of CAT activity could be an important part of common buckwheat resistance mechanisms to aluminium toxicity, such as regulation ROS balance, prevent the oxidative damage effects in plant cells.

The author thanks to his supervisor Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of Plant Physiology and Ecology Department of Taras Shevchenko National University of Kyiv N. Yu. Taran and PhD, Senior Researcher A.M. Kosyan for technical support.

Экспрессия гена ингибитора протеиназы EU 293132.1 и анионной пероксидазы TC 151917 при обработке хитоолигосахаридами с различной степенью ацетилирования и инфицировании *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker

Ахатова Альбина Рашитовна, Касимова Р.И.

ФГБВН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Россия, Уфа, akhatova.a@yandex.ru

В индукции развития ответных защитных реакций растительных клеток важным показателем является степень ацетилирования (СА) хитоолигосахаридов (ХОС), образующихся в результате гидролиза полимеров клеточных стенок грибов в ходе патогенеза. Одним из механизмов защитного действия ХОС является активация генов, регулирующих синтез патоген-индуцируемых белков, в частности, пероксидазы и ингибитора протеиназы растений. Учитывая, что стратегия защитного ответа растений определяется типом пищевой специализации патогена, то весьма важным является изучение роли СА ХОС в индукции защитного ответа растений в каждой конкретной патосистеме, в частности, «*Triticum aestivum* L. – некротрофный патоген *Bipolaris sorokiniana*».

В данной работе анализировали воздействие ХОС со СА 30% и 65% на экспрессию гена ингибитора протеиназы (ИП) и анионной пероксидазы (АП) (EU 293132.1 и TC 151917 соответственно) в растениях пшеницы сорта Жница на 3, 6, 9 сутки после инфицирования *B. sorokiniana* (10^6 спор/мл). ХОС со степенью ацетилирования 30% и 65% в концентрации 1 мг/л использовали для полусухой обработки семян пшеницы из расчета 20 мл/г.

Результаты исследования показали, что предпосевная обработка семян ХОС повышала экспрессию генов защитных белков. Так, обработка ХОС со СА 65% усиливала экспрессию гена АП и ИП через 6 суток после инокуляции в 1,5 и 2 раза соответственно. Индуцирующее действие ХОС со СА 30% на экспрессию генов в инфицированных растениях было менее

значительным. Таким образом, ХОС могут повышать устойчивость растений пшеницы к *B. sorokiniana* за счет активации анионной пероксидазы, участвующей в процессах лигнификации, и ингибитора протеиназы, действие которого направлено на подавление активности протеолитических ферментов, секретируемых патогеном. Причем, индуцирующее действие ХОС на экспрессию генов EU 293132.1 и TC 151917 зависит от СА.

Благодарим своего научного руководителя д.б.н. Любовь Георгиевну Яруллину за помощь и поддержку на всех этапах работы.

Влияние кадмия на церамиды растений салата посевого

Бабушкина Оксана Александровна

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, ННЦ «Институт биологии», кафедра физиологии и экологии растений, Украина, Киев, babushkinaoksana@gmail.com

Усиление антропогенного влияния ведет к функционированию растений в экстремальных условиях, спровоцированных выбросами производства. Одним из негативных факторов является кадмий, как наиболее токсичный из группы тяжелых металлов. Значительное количество кадмия попадает в атмосферу в составе выхлопных газов автомобилей, поэтому расположение полей вдоль трасс провоцирует загрязнение почв кадмием.

Негативное влияние тяжелых металлов на растения проявляется в нарушении физиолого-биохимических параметров липидов мембран. Актуальность наших исследований связана с малоизученными соединениями – растительными сфинголипидами, которые могут принимать участие в каскадах сигнальных реакций. Поэтому целью исследования было изучить действие ионов кадмия на сфинголипиды растений салата посевого (*Lactuca sativa L.*).

Объектом исследования были растения салата сорта Лоло зеленый кочанный, которые выращивали на растворе Кноппа. Обработку опытных вариантов ионами кадмия в концентрации 10^{-4} М проводили на 14-й день после прорастивания. Через 24, 48, 72 и 168 часов от начала экспозиции фиксировали растительный материал, проводили общую экстракцию липидов по методике Зила и Хармона в модификации Яковенко и Михно. Экстракцию сфинголипидов проводили по методу Азмена и определяли содержание липидов методом тонкослойной хроматографии в системе растворителей ацетон : толуол : вода.

На первые сутки экспозиции содержание церамидов в опытных растениях превышало контрольные образцы на 17%. Известно, что одним из первых барьеров на пути поступления тяжелых металлов в клетку является плазмалема, а церамиды выполняют функцию сигнальных молекул в защитных реакциях. На вторые и третьи сутки уровень церамидов в опытных растений снижался на 17% и 25% соответственно. В течении экспозиции происходило уменьшение содержания церамидов опытных растений на 88% относительно контроля. Снижение церамидов при постоянном поступлении кадмия объясняется участием церамидов в сигнальных реакциях, в реакциях ПОД, а также использованием церамидов в качестве строительного материала для других сфинголипидов.

Таким образом, на основании проведенных экспериментов можем констатировать обратную связь между временем контакта ионов кадмия с растениями и содержанием сфинголипидов в тканях. Постепенное уменьшение содержания церамидов свидетельствует об их участии в защитных реакциях на действие тяжелых металлов.

Оценка изменчивости андроклинных растений-регенерантов яровой мягкой пшеницы с использованием изоферментных маркеров

Галин Ильшат Рафкатович

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия, ilshat.rafkatovich@gmail.com

Получение андроклинных растений-регенерантов через формирование полиэмбрионидов в культуре *in vitro* изолированных пыльников рассматривается как метод клональной селекции,

направленный на тиражирование хозяйственно ценных генотипов. В то же время известно, что введение растений в культуру *in vitro* – сильнейший стрессовый фактор, вызывающий генетические изменения. В связи с этим оценка генетической однородности растений-регенерантов весьма актуальна.

Объектами исследования служили растения-регенеранты яровой мягкой пшеницы сорта Жница в фазе трех листьев. В работе использовали методы культуры *in vitro* изолированных пыльников яровой мягкой пшеницы и полиакриламидного диск-электрофореза изоферментов в щелочном разделяющем геле.

При исследовании в качестве молекулярных маркеров использовали изоферменты аспартатаминотрансферазы (AAT, 2.6.1.1), супероксиддисмутазы (SOD, 1.15.1.1), малатдегидрогеназы (MDH, 1.1.1.37). Данные ферментные системы ранее были охарактеризованы как перспективные для выявления генетических изменений при регенерации растений пшеницы в условиях культуры *in vitro*. Установлено, что в электрофоретических спектрах различных ферментных систем не выявляется различий компонентных составов между проростками растений-регенерантов. Такие данные говорят о достаточной стабильности локусов *Aat-2*, *Sod-1* и *Mdh-2* при введении растений в культуру *in vitro*. Кроме того компонентный состав изоферментных спектров растений-регенерантов соответствует изоферментным спектрам растений исходного сорта в соответствующей фазе, используемых в качестве контроля. Однако выявлены различия между растениями регенерантами и контрольными растениями в относительной активности изоферментов. Такие данные могут свидетельствовать о различии в активности экспрессии генов, контролирующих данные изоферменты, в условиях *in vitro* и *in vivo*.

На основании полученных данных можно сделать вывод, что получение андроклинных растений-регенерантов в культуре *in vitro* изолированных пыльников пшеницы через формирование полиэмбрионидов биотехнологически оптимально, так как выбранный способ позволяет массово получать генетически стабильные регенеранты.

Автор выражает благодарность Сельдиновой Оксане Александровне. Работа выполнена при поддержке гранта Президента Российской Федерации по программе «Ведущие научные школы России» (2014-2015 гг., № НШ-5282.2014.4, лидер – член-корр. РАН Т.Б. Батыгина).

Оптимизация методики клонального микроразмножения

***Allium regelianum* A. Beck.**

Крицкая Татьяна Алексеевна

Учебно-научный центр «Ботанический сад» Саратовского государственного университета имени Н.Г. Чернышевского, Россия, Саратов, kriczkaya.tatyana@mail.ru

Известно, что сохранение биоразнообразия – одна из важнейших задач биологической науки. Современные методы биотехнологии, в частности, клонального микроразмножения, позволяют сохранять редкие и исчезающие виды растений в коллекциях *in vitro* и, так называемых, генетических банках. Объектом нашего исследования являлся *A. regelianum* – эндемик юго-востока Русской равнины, имеющий тенденцию к сокращению численности.

Зрелые семена лука, собранные из природной популяции, подвергали ступенчатой стерилизации, затем помещали на питательную среду Мурасиге и Скуга (МС) без регуляторов роста в условиях ламинарного бокса и культивировали 1-1.5 мес. при +25°C и 16/8-фотопериоде до полного формирования проростков. Полученные миниатюрные луковички пересаживали на питательную среду МС с различными регуляторами роста с целью выявления оптимальных условий для активации пазушных меристем, при этом одну часть лукович оставляли целыми, а у другой – разрезали донце пополам на 2 или крест-накрест – на 4 одинаковые доли. Все эксперименты выполняли в трёх повторностях. Результаты статистически обработаны с использованием стандартных методик.

Наиболее эффективная схема стерилизации семян включала следующие ступени: раствор синтетического моющего средства – 30 мин., этиловый спирт 70% – 2 мин., раствор бытового отбеливателя «Белизна» 25% – 25 мин., трёхкратное ополаскивание стерильной дистиллированной водой. Доля стерильных эксплантов после подобной обработки составила 95%. Массовое прорастание семян наблюдали на 4-9 день культивирования. Через 1-1.5 мес. экспонирования проростки формировали луковички с диаметром 4-6 мм. Было установлено, что луковички, разрезанные пополам на 2 доли, обладали наибольшим морфогенетическим потенциалом по сравнению с остальными вариантами эксплантации. Коэффициент размножения при добавлении в питательную среду БАП, кинетина, зеатина и 2ip (по 0.5 мг/л) через 6 недель культивирования составил 1:4-1:9 микролуковичек/эксплант в каждом из вариантов. Луковички, помещенные на питательную среду целыми, не пролиферировали ни на одном из перечисленных вариантов, разрезанные на 4 доли, формировали такое же количество микролуковичек, что и разрезанные пополам, однако, лишь 1/3 подобных эксплантов оставалась жизнеспособной, 2/3 – некротизировали. Полученные микролуковички окончательно формировались и образовывали корни на питательной среде МС без регуляторов роста со стандартным содержанием сахарозы (30 г/л) через 4-5 недель культивирования при +25°C и 16/8-фотопериоде.

Результаты показали, что для *A.regelianum* возможен путь морфогенеза *in vitro* без стадии каллусообразования, нежелательного в работе с редкими видами растений, поскольку известно, что каллусные культуры генетически менее стабильны по сравнению с меристемами. Установлено, что наилучшими эксплантами для стадии микроразмножения *A.regelianum* являются луковички, разрезанные вдоль на 2 равные половины. Полное формирование луковичек происходит на питательной среде без регуляторов роста в стандартных условиях. Полученные луковички могут быть использованы для следующего цикла клонального микроразмножения либо адаптированы к нестерильным условиям.

Лектины льна масличного как фактор адаптации к абиотическим стрессам

Левчук Анна Николаевна

*Запорожский национальный университет, биологический факультет, Запорожье
Украина, anna.levchuck@yandex.ua*

В виду отсутствия мобильности растительные организмы не способны избежать негативного влияния факторов окружающей среды, поэтому вынуждены приспосабливаться к новым условиям окружающей среды, меняя при этом свой метаболизм. Не последнюю роль в формировании устойчивости играют лектины – гликопротеины, способные распознавать и связывать углеводы, расположенные на клеточных поверхностях. На различных культурах показана роль лектинов разных клеточных фракций в адаптации к абиотическим стрессовым факторам. Так, лектины клеточных стенок и мембран органелл участвуют в формировании устойчивости к морозу, а растворимые лектины – к засолению.

Целью работы было установление изменений характеристик лектинов льна масличного в зависимости от общего уровня устойчивости и степени адаптации растения к различным абиотическим стрессовым факторам. Работу проводили с 7-ми дневными этиолированными проростками льна масличного шести генотипов, различающихся по степени адаптации к абиотическим стрессовым факторам. Лектины экстрагировали из разных клеточных фракций (мембран, растворимой части цитоплазмы и клеточных стенок) по стандартным методикам с некоторыми модификациями.

Установлено, что в результате воздействия абиотических стрессов лектины проростков меняются. Наиболее существенно изменяется коэффициент лектиновой активности. При этом прослеживается зависимость от уровня устойчивости, вида стрессового воздействия и клеточной локализации лектина: в процессе адаптации к пониженной температуре коэффициент лектиновой активности значительно повышается у лектинов клеточных стенок холодоустойчивых генотипов, тогда как у лектинов других фракций этот показатель не

превышает контрольное значение. При адаптации к остальным абиотическим стрессовым факторам, значительно возрастает активность мембранных лектинов.

Качественная характеристика лектинов в процессе адаптации растений льна масличного также изменялась только у растворимых лектинов устойчивых генотипов. Так, в процессе адаптации к гипотермии у лектинов появлялась способность распознавать независимо от генотипа фруктозу и лактозу; к гипертермии – глюкозу и глюкозамин; к осмотическому стрессу – маннозу и ксилону, а к засолению – галактозу, глюкозу и глюкозамин.

Таким образом, лектины льна масличного можно отнести к специфическим факторам устойчивости: в процессе адаптации повышается активность и изменяется углеводная специфичность лектинов различной клеточной локализации, что зависит от типа стресса.

Действие экзогенной перекиси водорода на субпротопласты из пыльцевых трубок

Nicotiana tabacum L.

Максимов Никита Михайлович, Брейгина Мария Александровна

МГУ имени М.В. Ломоносова, биологический факультет, Россия, Москва,

nmmaksimow@gmail.com

Перекись водорода образуется в растительной клетке в результате дисмутации токсичного O_2^- , который является побочным продуктом энергетического метаболизма, а также образуется в результате работы НАДФН-оксидазы. Перекись играет важную регуляторную роль в ряде физиологических процессов, таких как: работа устьиц, рост корневого волоска, программируемая клеточная гибель, реакция сверхчувствительности. Участие H_2O_2 в репродуктивных процессах изучено недостаточно, хотя для многих видов покрытосеменных растений показано закономерное изменение содержания H_2O_2 в репродуктивных тканях, в том числе накопление H_2O_2 в тканях рыльца при подготовке к опылению.

Поскольку оболочка пыльцевого зерна обладает значительным антиоксидантным потенциалом, который осложняет использование экзогенной H_2O_2 , в качестве объекта использовали субпротопласты, выделенные из пыльцевых трубок *Nicotiana tabacum* L. Разработанная методика выделения позволяет получать жизнеспособные субпротопласты, лишённые ядер и клеточной стенки. С помощью количественной флуоресцентной микроскопии изучали влияние перекиси на $[Ca^{2+}]_{\text{цит}}$ и мембранный потенциал плазмалеммы.

Изучение динамики $[Ca^{2+}]_{\text{цит}}$ с использованием флуоресцентного красителя Fluo-3 позволило выявить увеличение $[Ca^{2+}]_{\text{цит}}$ при добавлении перекиси (10 мкМ). Участие в этом процессе кальциевых каналов плазмалеммы демонстрировали с использованием специфичного ингибитора нифедипина, который эффективно блокировал вход Ca^{2+} . Можно было предположить, что этот процесс опосредован изменениями мембранного потенциала. С помощью флуоресцентного потенциал-чувствительного красителя Di-4-ANEPPS было обнаружено, что после добавления перекиси происходила гиперполяризация мембраны. Сходные данные были получены с помощью другого потенциал-зависимого красителя, DiBAC₄(3), позволяющего определить абсолютные значения мембранного потенциала. Чтобы проверить, не связаны ли обнаруженные эффекты с гибелью клеток или патологическим изменением их физиологического состояния, использовали общепринятое окрашивание FDA и определяли значение внутриклеточного pH. Действие даже 100 мкМ H_2O_2 не приводило к изменению pH и снижению жизнеспособности, что позволяет считать концентрацию 10 мкМ H_2O_2 физиологически адекватной, а обнаруженные эффекты рассматривать как результат активации транспортных систем, являющихся мишенями для специфического действия H_2O_2 .

Полученные результаты свидетельствуют о возможном участии перекиси в передаче экзогенного сигнала в мужском гаметофите. В качестве H_2O_2 -индуцируемых компонентов сигнального каскада могут выступать кальциевые каналы, а также другие транспортные системы, контролирующие величину мембранного потенциала.

Биохимические аспекты солеустойчивости галофитов Приэлььтонья

Нестеров Виктор Николаевич, Богданова Е.С.

Институт экологии Волжского бассейна РАН, Тольятти, Россия, nesvik1@mail.ru

В Европейской части России общая площадь засоленных почв составляет около 23,3 млн. га. Экологическая реставрация, освоение деградированных пастбищных земель и засоленных почв являются составной частью программы устойчивого развития жизнеспособного сельского хозяйства Российской Федерации. В связи с этим, изучение физиолого-биохимических свойств галофитов является важным, как для понимания механизмов солеустойчивости, так и для применения полученных сведений в прикладных целях, поскольку галофиты используются в пищевых целях, а также в биоиндикации и регуляции процессов засоления почвы, фиторемедиации загрязненных (например, тяжелыми металлами) территорий. Устойчивость галофитов к засолению обеспечивается разнообразными механизмами, как на уровне отдельных клеток, так и на уровне целого растения. Например, установлена важность белков водных каналов (аквапоринов) растений для поддержания осмотического баланса и транспорта воды в клетках солеустойчивых растений, а также транспортных белков, таких как Na^+/H^+ -, Cl^-/H^+ -антипортеры и H^+ -АТФазы.

В работе исследовали оводненность тканей, содержание натрия и калия, содержание водорастворимых (ВБ) и мембраносвязанных (МБ) белков в листьях и корнях галофитов, произрастающих на засоленных почвах бассейна оз. Эльтон. Объектами исследования были выбраны представители однолетников и многолетников, дифференцированные по стратегии солеустойчивости. Виды, относящиеся к эвгалофитам – *Salicornia perennans* Willd., *Suaeda linifolia* Pall., *Halocnemum strobilaceum* (Pall.) Bieb., криногалофитам – *Limonium gmelinii* (Willd.) O. Kuntze, гликогалофитам – *Artemisia santonica* L. Жизненные формы исследованных галофитов – полукустарнички (*A. santonica*, *H. strobilaceum*), травянистые однолетники (*S. perennans*, *S. linifolia*) и травянистый многолетник (*L. gmelinii*).

В количественном отношении содержание ВБ доминировало над содержанием МБ как в надземных, так и в подземных органах, о чем свидетельствует отношение ВБ/МБ больше 1. Этот показатель в листьях травянистых эвгалофитов *S. perennans*, *S. linifolia* и полукустарничкового эвгалофита *H. strobilaceum* был меньше чем у криногалофита *L. gmelinii* и гликогалофита *A. santonica*. Подобная закономерность была установлена и в клетках корневой части растений. При этом, содержание суммарных ВБ и МБ в клетках корней *L. gmelinii* превышало их содержание в листьях. Количество ВБ и МБ в клетках листьев остальных исследуемых видов превышало их содержание в сравнении с корнями, особенно у гликогалофита *A. santonica* (в 2 и более раз).

Таким образом, установлено, что наибольшее значение в стратегии солеустойчивости имеет не абсолютное содержание белковых компонентов, а их соотношение. Вероятно, у соленакапливающих видов относительно высокое содержание МБ является частью единого механизма солеустойчивости, предполагающего изоляцию и детоксикацию избытка солей в тканях растений.

Авторы выражают благодарность Розенцвиг О.А. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 12-04-0111-а.

Устойчивость растений *Elytrigia repens* к повышенному содержанию цинка в субстрате

Рыхлова Александра Дмитриевна

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Петрозаводский государственный университет,
Петрозаводск, Россия

Повышенное содержание цинка в почвах вследствие активной деятельности промышленных предприятий, внесения большого числа минеральных удобрений и гербицидов является в настоящее время серьезной экологической проблемой в целом ряде регионов мира. В относительно небольших концентрациях цинк необходим растениям, однако повышение его уровня в окружающей среде оказывает сильное негативное влияние на рост и развитие растений, снижает их способность к репродукции, что может приводить к нарушению естественного растительного покрова. В этой связи, изучение дикорастущих видов растений, устойчивых к повышенному содержанию цинка в почве, представляет не только теоретический, но и практический интерес с точки зрения их использования в фиторемедиации загрязненных почв.

В вегетационных условиях изучали устойчивость к повышенным концентрациям цинка одного из доминирующих в травянистых фитоценозах Европейского Севера дикорастущих видов злаков – пырея ползучего (*Elytrigia repens* L.). Для этого семена проращивали в лабораторных условиях в чашках Петри при температуре воздуха 22° в течение 7 дней, после чего проростки высаживали в сосуды с песком объемом 1 дм³. В опытных вариантах в сосуды добавляли цинк в концентрации 160 мг/кг субстрата. Спустя 40 дней оценивали устойчивость растений к металлу по изменению (по отношению к контролю) некоторых морфофизиологических показателей, а также определяли содержание в клетках корня и листа непротеиновых тиолов: глутатиона (GSH) и фитохелатинов (ФХ).

Результаты морфологического анализа показали, что цинк в изученной концентрации замедляет рост корня у пырея, однако ингибирующего действия на рост побега не наблюдается. Более того, в присутствии металла увеличивалась площадь листовой пластинки и возрастало число побегов кушения. При изучении воздействия цинка на фотосинтетический аппарат растений обнаружено некоторое снижение количества фотосинтетических пигментов и интенсивности фотосинтеза. Вместе с тем отрицательного влияния на параметры, характеризующие активность фотосистемы II, не выявлено. В присутствии цинка в клетках корня и листа растений значительно повышалось (в 10 и 16 раз, соответственно) содержание ФХ. При этом количество GSH в листьях снижалось, очевидно, вследствие расходом его молекул на синтез ФХ, тогда как в корнях – увеличивалось. Возрастание уровня GSH в клетках свидетельствует о запуске его синтеза, что, как полагают, способствует повышению устойчивости растений.

Таким образом, на основании полученных данных можно сделать вывод о высокой устойчивости пырея ползучего к повышенному уровню цинка в субстрате, которая обеспечивается различными механизмами, действующими на уровне организма (возрастание числа побегов кушения), органа (увеличение площади листа при некотором снижении скорости фотосинтеза) и клетки (повышение содержания непротеиновых тиолов). Результаты исследования свидетельствуют также о возможности использования этого вида злаков в фиторемедиации почв, загрязненных цинком.

Получение каллусных и суспензионных культур клеток *Tribulus terrestris* L.

Ханды Мария Терентьевна, Суханова Елена Сергеевна

МГУ имени М.В.Ломоносова, Россия, Москва, handy_89@mail.ru

В настоящее время использование культур клеток *in vitro* является одним из альтернативных источников получения вторичных метаболитов растительного происхождения. В этом аспекте перспективной может быть культура клеток лекарственного растения якорцы стелющиеся (*Tribulus terrestris* L.), в качестве источника стероидных гликозидов. Следует отметить, что, согласно анализу доступной литературы, суспензионная культура *Tribulus terrestris* L. ранее получена не была.

Первым этапом работ было получение каллусных культур клеток *Tribulus terrestris* L. Использовали среду MS с добавлением витаминов, гидролизата казеина, инозита, сахарозы и агара. Были испытаны 14 вариантов сред, отличающихся по составу регуляторов роста, в качестве которых использовали НУК, 2,4-Д, кинетин, БАП в различных соотношениях.

Установлено, что каллусные культуры *Tribulus terrestris* L. формировались только на среде, содержащей 2,4Д и БАП. Первичный каллусогенез начинался непосредственно из семян на 10 сутки культивирования, без образования корней и побегов. Интенсивность каллусогенеза составляла 20%. Полученные каллусные культуры характеризовались светло-желтым цветом, рыхлой структурой и высокой степенью оводнения.

На среде содержащей НУК и БАП в первые недели культивирования наблюдали образование на семенах соматических эмбрионидов, которые погибали ко 2-3 пассажу. Однако при переводе эмбрионных культур на среду, содержащую 2,4-Д в качестве ауксина, из них также формировался каллус, близкий по характеристикам с каллусом, полученным на среде с 2,4Д и БАП. В остальных вариантах в течение 4-х пассажей каких-либо ростовых процессов не выявлено

Для получения суспензионных культур использован стандартный способ – через каллусные культуры, которые помещали в жидкие среды аналогичного состава, но без добавления агара. Культуры выращивали в колбах объемом 250 мл (30 мл суспензии в колбе), на качалке (100 об./мин.). Полученная первичная суспензия клеток имела желтый цвет, содержала небольшие агрегаты клеток меристемоподобного типа, одиночные паренхимоподобные и удлинённые клетки, а также грушевидные клетки с большим количеством крахмальных зерен.

Таким образом, впервые получена суспензионная культура *Tribulus terrestris* L., которая в дальнейшем может быть использована для выделения стероидных гликозидов, имеющих прикладное значения для медицины.

Оптимизация методов экспресс-оценки устойчивости форм рода *Cerasus* Mill. к коккомикозу с помощью биохимических и морфологических параметров.

Шестакова Вера Владимировна

ГНУ Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства, Краснодар, Россия, Shestakova-vv@mail.ru

Одной из задач экологизации садоводства является введение в производство устойчивых к грибным заболеваниям форм плодовых культур. В связи с изменением погодно-климатических условий в Краснодарском крае за последнее десятилетие усилилась вредоносность коккомикоза (возбудитель – *Coccomyces hiemalis* Higgins, *Blumeriella jaapii* (Rehm) Arx), значительно снижающего урожайность и зимостойкость деревьев косточковых культур (черешни, вишни). Наличие в СКЗНИИСиВ современной инструментальной лабораторной базы позволило провести изучение биохимического состава листьев и морфологических параметров растений представителей рода *Cerasus* Mill. с помощью стандартных и адаптированных методик и разработать методы экспресс-оценки устойчивости растений к патогену.

Нами было установлено, что весной в период активного роста растений обнаруживаются статистически достоверные различия по наибольшему числу биохимических показателей. Получены функции классификации и неравенство, позволяющее относить неизвестные образцы к устойчивым или неустойчивым еще до поражения болезнью по количественным соотношениям биохимических показателей. С помощью статистических методов из категории многомерных, используя концентрации выделенных веществ, произведено разделение растений: на сильно поражаемые, на формы с элементами горизонтальной устойчивости (с полигенным типом устойчивости) и на не поражаемые болезнью.

Найдены апробационные морфологические признаки листа и побега, анализ количественных показателей по каждому из которых, показал четкое их влияние на фактор «генотип растений» даже среди близкородственных генотипов (на примере семьи Булатниковская х [C.Lannesiana х Франц Иосиф]). Выявлены корреляционные связи между устойчивостью к патогену и количественными и качественными морфологическими показателями. Обнаруженная связь морфологических признаков гибридов с устойчивостью к коккомикозу позволила на основе пошагового множественного регрессионного анализа, методом последовательного исключения информативных переменных получить уравнение регрессии, позволяющее распределять образцы по степени устойчивости.

Оптимизированные методы экспресс-оценки устойчивости форм рода *Cerasus Mill.* к коккомикозу с помощью биохимических и морфологических показателей позволят ускорить оценку генетических ресурсов и проводить фундаментальные исследования при изучении механизмов устойчивости к коккомикозу.

Специфика накопления каротиноидов в сырье *Calendula officinalis* L. под влиянием эпина и аминолевулиновой кислоты (АЛК)

Шши Светлана Николаевна

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Беларусь г. Минск, cazonovacv@mail.ru

На современном этапе развития сельского хозяйства большое развитие получило применение регуляторов роста различной природы. Выращивание лекарственных культур требует тщательного подбора регуляторов роста, ведь в данном случае важно не только улучшить агрономические качества семян и повысить их урожайность, но и получить качественное лекарственное сырье. Поэтому целью данной работы было выявление особенностей влияния регуляторов разной природы на специфику накопления неферментативных антиоксидантов, в частности каротиноидов, в сырье *Calendula officinalis* L. Для обработки семян использовались эпин и АЛК в четырех концентрациях: 1) $10^{-6}\%$ (эпин 1 и АЛК 1); 2) $10^{-7}\%$ (эпин 2 и АЛК 2); 3) $10^{-9}\%$ (эпин 3 и АЛК 3); 4) $10^{-11}\%$ (эпин 4 и АЛК 4). Обработка семян для полевого опыта проводилась методом инкрустации. Определение каротиноидов произведено по методике описанной Ермоковой А.И.

Установлено, что на уровень накопления каротиноидов оказывают влияние, как вид регулятора, так и его концентрация. Так эпин в первых трех концентрациях понижает уровень каротиноидов в соцветиях *Calendula officinalis* L. на 35%, 28% и 25,5% соответственно. Данные статистически достоверны при уровне значимости $p \geq 0,001$. Эпин 4 напротив повышает содержание каротиноидов на 47%. АЛК стимулирует накопление каротиноидов, но с разной степенью выраженности. Так, АЛК 1 увеличивает уровень каротиноидов на 41,4 %, АЛК 2 – на 22%, АЛК 3 – на 56 %, АЛК 4 – на 142 %. Все данные статистически достоверны. Специфичность реакции на предпосевное воздействие изучаемыми регуляторами состоит в том, что не наблюдается прямой зависимости эффекта от концентрации как АЛК, так и эпина. Достоверно установлено наличие выраженного стимулирующего эффекта от воздействия регуляторов в минимальной концентрации $10^{-11}\%$. Анализ полученных данных и источников

информации показал, что повышение уровня каротиноидов при определенных концентрациях и видах воздействия является результатом сдвига метаболических реакций, как ответной реакции антиоксидантной системы изучаемых растений на предпосевное воздействие. Обработанные растения подвергаются стрессовому воздействию физиологически активными веществами, что и приводит к повышенному накоплению каротиноидов, являющихся неферментативными антиоксидантами.

Таким образом, выявлена избирательная реакция *Calendula officinalis* L. на обработку семян эпином и АЛК, что отразилось на качестве фитосырья. Так АЛК во всех концентрациях повышает качество лекарственного сырья, т. е. его антиоксидантные свойства (не ферментативные антиоксиданты - каротиноиды), а значит применение такого регулятора роста оправдано. Позитивное влияние Эпина на накопление каротиноидов отмечено только в концентрации $10^{-11}\%$, тогда как остальные исследуемые концентрации данного препарата снижали уровень каротиноидов в сырье относительно контрольных значений.

Стеновые доклады

PerP влияет на биогенез белков у одноклеточной цианобактерии

***Synechocystis* sp. PCC 6803**

Баик Алина Святославовна

*Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; Россия, Москва,
a_baik@mail.ru*

В геноме одноклеточной цианобактерии *Synechocystis* PCC 6803 (далее *Synechocystis*) содержится ген *slr0136* (NCBI NP_441891), который, согласно базе данных NCBI, кодирует белок пролиновой аминептидазы PerP. Эта группа ферментов осуществляет избирательный протеолиз белков, гидролизуя аминокислотный остаток от N-конца пептидов и белков только в том случае, если в следующем после него положении находится пролин. Согласно базе данных CyanoBase, геном *Synechocystis* кодирует 25 аминепептидаз разного типа, однако функция пролиновых аминепептидаз до сих пор не изучена.

Для функционального анализа белка PerP нами был получен инсерционный мутант *ΔperP* *Synechocystis*, содержащий каскету устойчивости к канамицину в гене *slr0136*. Успешная инактивация этого гена свидетельствует о том, что функция белка PerP не является жизненно необходимой для клеток цианобактерий при стандартных условиях роста (32° С, 70 мкмоль фотонов/м² с, 1.6 % CO₂). При выращивании жидкой клеточной культуры мутант *ΔperP* характеризовался замедленным ростом и адсорбированием клеток на стенках барботера. Культура мутантного штамма имела более светлый оттенок, что связано с пониженным содержанием пигментов. Для выяснения причин агрегации клеток у мутанта использовали световую и электронную микроскопию. Анализируя временные препараты клеток *ΔperP*, мы наблюдали наличие скоплений клеточных агрегатов в сравнении с преобладанием одиночных клеток у дикого штамма. Специфика подобного поведения *ΔperP* пока не установлена. Вероятно, она может быть связана с нарушением клеточного деления.

Выделение растворимой фракции белков из клеток дикого и мутантного штаммов *Synechocystis* посредством French press, с последующим 2D EIF электрофорезом показали различия в белковом профиле мутанта от дикого типа. Maldi-tof анализ отсутствующих у *ΔperP* белков в образцах дикого типа позволил установить, что клетки мутантного штамма *Synechocystis* лишены линкерного белка размером 33 кДа, участвующего в сборке фикобилисом путем связывания дистальных блоков фикоцианина, и фактора элонгации Tu.

Автор выражает благодарность Пожидаевой Елене Станиславовне. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 12-04-00049-а.

Морфологические изменения у трансгенных растений-гиперпродуцентов ауксинов
Борцова Светлана Андреевна, Санаева Юлия Владимировна,
Ермошин Александр Анатольевич

Уральский Федеральный университет, Екатеринбург, Россия, svetik_sun_7@mail.ru

Одним из ведущих механизмов в процессах роста и развития растений является гормональная система. Изучение роли фитогормонов в растениях имеет как фундаментальное, так и практическое значение, но, к сожалению, экзогенная обработка фитогормонами не отражает корректно те изменения, которые происходят в растениях при их эндогенном действии. В ходе нашей работы была изучена роль гиперпродукции ауксинов в росте трансгенных растений табака, экспрессирующих агробактериальный ген биосинтеза ауксинов – триптофанмонооксигеназу (*iaaM*).

Объектом исследования являлись взрослые растения табака *Nicotiana tabacum* L. cv. *Samsun*, трансгенные линии с геном *iaaM* под контролем промотора CaMV 35S и трансгенный контроль – растения, трансформированные вектором без инсерции целевого гена (линия pSS). Растения выращивали в условиях закрытого грунта на биостанции УрФУ с мая по сентябрь. Для исследования ростовых характеристик определяли такие параметры как площадь, длина, содержание суммы хлорофиллов и сухая масса листа 5-ого от соцветия (верхнего) и 5-ого от уровня грунта (нижнего) ярусов, а также высота растения и фертильность пыльцы.

Растения с гиперпродукцией ауксинов значительно отставали в росте от контроля. Их высота в июне месяце составляла 113 см, когда как у контроля- 144 см, у *pSS-линии* - 147 см. В конце вегетации, в сентябре, разница показателей по высоте у ауксиновых растений составила около двух раз по сравнению с контролем, в котором высота превышала 2 м. Число листьев не отличалось у исследованных вариантов. Кроме изменения в высоте растения, обнаружены отличия в морфологии листа и содержании в нем фотосинтетических пигментов. Листья исследуемого варианта отличались хлорозностью, их края закручивались книзу. Площадь листа (см²) для нижнего яруса составляла: ауксиновые растения – 163; контроль – 320; *pSS* – 331.5 и верхнего: ауксиновые – 70; контроль – 154.5; *pSS* – 167. Длине листа (см) для нижнего яруса: ауксиновые – 17.6; контроль – 23; *pS S*- 24 и верхнего: ауксиновые – 13; контроль – 18; *pSS*-18. Эти изменения отразились на сухой массе листа, как интегральном показателе фотосинтетической продуктивности. Масса (г) листа нижнего яруса: ауксиновые – 0.51; контроль – 1.15; *pSS* – 1.25 и верхнего: ауксиновые – 0.34; контроль – 0.73; *pSS* – 0.67. Анализ содержания фотосинтетических пигментов показал достоверное снижение суммарного содержания хлорофиллов *a+b* (мг/г сухого веса): нижний ярус: ауксиновые – 4.26; контроль – 7.85; *pSS* – 6.39

У растений с повышенным содержанием ауксинов наблюдали значительные изменения в репродуктивной сфере. Стерилизация пыльцы достигла 80.4 % в то время как в контроле составила всего 23.1% и 43% для линии *pSS*.

Результаты, полученные в работе, подтверждают, что избыток фитогормонов подавляет рост растения. Если экзогенная обработка ауксинами часто приводит к увеличению длины побега, стимулируя апикальное доминирование, то избыток эндогенных фитогормонов наоборот, вызывает замедление роста растения. Также избыток ауксинов вызывает стерилизацию растения, подавляет синтез хлорофиллов и нарушает процессы деления и растяжения клеток листа.

Эффективность инокуляции ризобактериями лукавиц *Allium cepa* L. (ALLIACEAE)

Евсичева Анна Владимировна

РГПУ им. А. И. Герцена, Россия, Санкт-Петербург,

В настоящее время рост населения планеты и возрастающая потребность человечества в продуктах питания вызывают необходимость развития производства сельскохозяйственной продукции. Но повсеместное применение пестицидов и агрохимикатов усиливает процессы

загрязнения агроэкосистем и деградацию почвы, поэтому использование бактериальных препаратов в сельском хозяйстве в настоящее время очень актуально. Применение биопрепаратов требует меньших экономических затрат, они обладают более эффективным действием при тех же дозах вноса, обеспечивают улучшение качества сельскохозяйственной продукции. При использовании бактериальных препаратов улучшается минеральное, а в частности азотное питание растений, следовательно практическая важность использования бактериальных препаратов в сельском хозяйстве будет неуклонно возрастать.

Целью нашего опыта являлось определить влияние бактериальных препаратов на ростовые показатели и продуктивность лука репчатого (*Allium cepa* L.). Из бактериальных препаратов нами использовались азоризин (*Azospirillum lipoferum*, штамм 137), мизорин (*Arthrobacter mysoresensis*, шт. 7), флавобактерин (*Flavobacterium sp.*, шт. 30). Объектом наших исследований являлся сорт А. сера «Центурион». Полевой опыт был заложен на базе биостанции РГПУ им. А.И. Герцена в поселке Вырица (Гатчинский р-н, Ленинградской области) в 2013 г. Опыты проводились по общепринятой методике (Доспехов, 1985). В течение опыта измерения проводились дважды: в фазу всходов и фазу цветения.

По результатам исследования нами было отмечено увеличение высоты растений при применении всех бактериальных препаратов: азоризин до 8,1 см (до 30%); мизорин до 6,9 см (до 26%) к контролю; максимальное увеличение наблюдалось при использовании флавобактерина - до 8,5 см (до 32 %) относительно контрольных данных. При наблюдении за ростовыми процессами лука-севка наилучший эффект по увеличению количества листьев отмечался при использовании флавобактерина (до 21% к контролю), азоризин и мизорин так же оказали положительное воздействие (до 16% и 2% соответственно).

Также нами анализировались показатели продуктивности растений. В итоге общая продуктивность сырой массы значительно увеличилась во всех вариантах относительно контрольных данных: азоризин до 4,7 ц/га (46%), мизорин до 5,7 ц/га (58%) к контролю. Наилучший эффект оказало применение флавобактерина – увеличение биомассы до 6,6 ц/га (64 %) к контролю.

По результатам нашей работы можно сделать вывод, что все бактериальные препараты оказывают положительный эффект при выращивании лука-севка сорта Центурион, что проявилось в увеличении ростовых показателей и продуктивности в сравнении с необработанными вариантами. Особенно это справедливо в отношении флавобактерина, что может быть связано с наибольшей комплементарностью флавобактерий к корневым выделениям данной культуры исследуемого нами сорта.

Ультраструктура клеток и распределение СГ в тканях листьев галофита *Suaeda. altissima*

Майорова Ольга Викторовна, Халилова Людмила Абдулганиевна
Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия,
oli-ifr@mail.ru

Распределение и транспорт Na^+ и СГ в системе целого растения играют важную роль в формировании механизмов, лежащих в основе солеустойчивости растений. Считается, что солеустойчивые растения обладают способностью избегать накопления Na^+ и СГ в активно метаболизирующих тканях, депонируя эти ионы в частях растений, не имеющих существенного значения для жизнедеятельности. Такое представление, однако, слабо обосновано экспериментальными данными. Цель работы состояла в исследовании распределения ионов СГ

по тканям листа *Suaeda altissima*, что потребовало также изучения анатомии и ультраструктуры клеток этого растения.

Растения выращивали на питательном растворе, содержащем NaCl в концентрациях 1, 250, и 750 мМ. Распределение СГ в тканях изучали с помощью энергодисперсионного спектрометра (рентгеновский микроанализ), ультраструктуру клеток листа – с помощью трансмиссионного электронного микроскопа.

Проведенные исследования показали, что листья *S. altissima* характеризуются коронарно-сведоидной анатомией, типичной для суккулентов. На поперечном срезе листа можно было видеть (от центра к периферии) клетки проводящего пучка, водоносной паренхимы, обкладки, мезофилла и эпидермы. Ионы СГ содержались в клетках всех тканей листа. Их содержание в тканях возрастало по мере увеличения концентрации NaCl в питательном растворе. Наиболее заметное увеличение содержания СГ наблюдалось в водоносной паренхиме. Накопление СГ в этой ткани сопровождалось деструкцией ее клеток. Деструктивные изменения, наиболее ярко выраженные при наружной концентрации NaCl 750 мМ, проявлялись в интенсивной везикуляции цитоплазмы, образовании большого числа пиноцитозных инвагинаций (ПИ), направленных из цитоплазмы в вакуоль, и отделении их от цитоплазмы. Отделившиеся от цитоплазмы и оказавшиеся внутри вакуоли пиноцитозные структуры включали в себя различного рода цитоплазматический материал, в том числе органеллы, которые подвергались лизису. Процесс сопровождался постепенным истончением цитоплазмы и нарушением целостности тонопласта, что заканчивалось слиянием цитоплазмы и вакуолярного содержимого и окончательной деградацией органелл, по-видимому, гидролитическими ферментами вакуоли. В целом описанный процесс напоминает аутофагию.

Полученный результат показывает, что клетки водоносной паренхимы, скорее всего, являются депо для поступающих в лист с транспирационным током ионов СГ. Накапливающиеся ионы, вероятно, является причиной деградации этих клеток. Можно предположить, что аккумуляция СГ и, возможно, Na^+ в водоносной паренхиме позволяет снизить содержание этих ионов в фотосинтезирующих клетках мезофилла и обкладки, внося этим вклад в солеустойчивость *S. altissima*.

Данная работа проводилась в рамках гранта РФФИ 12-04-00987-а. Автор выражает благодарность кбн Орловой Юлии Викторовне и проф. Балнокину Ю.В. за помощь в работе. Выражаем благодарность заведующему межкафедральной лабораторией электронной микроскопии Биологического факультета МГУ Давидовичу Г.Н. и ведущему инженеру лаборатории Богданову А.Г. за помощь, внимание, всестороннюю поддержку, оказанные на всех этапах работы.

Участие кофейной кислоты в регуляции столоно- и клубнеобразования у *Solanum tuberosum* в условиях деструктурированного тубулинового цитоскелета

Макеева Инна Юрьевна, Бычков И.А., Ануфриев А.Г.

ФГОУ ВПО «Орловский государственный университет», факультет естественных наук,
Орел, Россия, Makmus57@yandex.ru

Проблема изучения физиологической роли вторичных метаболитов в растительном организме остается актуальной в современной физиологии растений. Из всех групп фенольных соединений в меньшей степени исследованы гидроксикоричные кислоты. Отсутствуют сведения об их участии в регуляции роста растений в условиях нарушения структуры элементов цитоскелета. В условиях почвенной культуры изучали действие кофейной кислоты (Sigma) в концентрации 0,6 мМ на столоно- и клубнеобразование у растений картофеля (*Solanum tuberosum* L.). В качестве антимиотрубочкового агента использовали 1 мМ раствор колхицина (Sigma). Обработку растений указанными растворами проводили через 15 суток после появления всходов. Выявлено, что кофейная кислота на 29% стимулирует

столонообразование, тогда как колхицин тормозит данный процесс (на 38%). При их совместном действии кофейная кислота снимает отрицательный эффект колхицина не только на столонообразование, но и на инициацию клубнеобразования, что следует из большего количества столонов в кусте с образовавшимися клубнями. Отмечено повышение продуктивности картофеля в варианте с кофейной кислотой (на 26% против контроля) и снижение на 31 % под воздействием деструкции микротрубочек. Как и в случае с инициацией клубнеобразования, кофейная кислота в варианте с нарушенной структурой тубулинового цитоскелета снимала отрицательное влияние колхицина на рост клубней, что положительно сказалось на продуктивности растений. Показанные изменения под действием кофейной кислоты происходили на фоне увеличения содержания фитогормонов ауксинов, ответственных за рост формирующегося клубня. В варианте с колхицином отмечено снижение уровня как ауксинов, так и цитокининов. Таким образом, положительное действие кофейной кислоты на процесс клубнеобразования при деструкции микротрубочек, по-видимому, опосредовано изменениями в гормональном статусе растения картофеля.

Влияние солевого стресса на некоторые цитофизиологические и биохимические показатели проростков пшеницы

Наджарьян Александр Юрьевич

Южный федеральный университет, Россия, Ростов-на-Дону, dvor2015@mail.ru

Современные сорта сельскохозяйственных растений должны обладать не только высокой урожайностью и хорошими качествами плодов, но и достаточным потенциалом адаптации к неблагоприятным факторам внешней среды. Одним из наиболее вредоносных абиотических воздействий является избыточное засоление почв. Оно действует постоянно, существенно ухудшает физиологическое состояние растений и снижает их продуктивность. Исходя из этого, целью нашей работы является исследование влияния солевого стресса на некоторые цитофизиологические показатели проростков пшеницы.

Объектом исследования служили семена пшеницы сорта «Станичный» урожая 2012 г., собранные в Пролетарском районе Ростовской области, почвы которого характеризуются достаточно высоким уровнем засоления. Семена замачивали в чашках Петри в растворах 0,1 М и 0,2 М NaCl, в течение 5-ти суток, при температуре 25°C. Контролем служили семена проросшие на дистиллированной воде.

Полученные нами данные свидетельствуют о замедлении поступления воды в проростки, что нашло свое выражение в уменьшении оводненности растительных тканей – побегов и корней. В контрольных растениях оводненность побегов составляла $86,7 \pm 0,28\%$, корней – $90,2 \pm 0,42\%$. При проращивании семян на растворе 0,1 М NaCl оводненность побегов и корней уменьшалась незначительно, а проращивание семян на 0,2М растворе NaCl приводит к более явно выраженному снижению этого показателя. Так значение оводненности в этом опыте в корнях снизилось практически на 10% по сравнению с контролем и на 7% в побегах.

Так же наши исследования показали торможение вступления клеток меристемы корешков проростков в митоз. Клетки контрольных образцов вступали в митоз спустя 12 часов с момента замачивания. При засолении 0,1 М NaCl первые делящиеся клетки отмечены через 14 часов прорастания. При засолении 0,2 М NaCl вступление клеток в митоз начинается спустя 16 часов с момента замачивания. Кроме того отмечалась асинхронность вступления клеток в митоз.

В наших опытах интенсивность перекисного окисления липидов в проростках пшеницы оценивалась по уровню содержания промежуточного продукта ПОЛ – МДА. Полученные результаты показали, что при засолении (0,1М и 0,2 М NaCl) содержание МДА в побегах снижается на 24% и 34% по сравнению с контролем, а в корнях, напротив, увеличивается на 18% и 53%, соответственно.

Таким образом, действие засоления приводит к достоверному снижению уровня оводненности, что в свою очередь влечет за собой задержку роста и растяжения клеток проростков. Также повышенное содержание солей в субстрате тормозит вступление клеток в митоз и ускоряет процессы перекисного окисления липидов, что подтвердили полученные результаты по содержанию МДА в корнях и побегах проростков.

Анализ экспрессии генов проростков риса, кодирующих ключевые ферменты аскорбат-глутатионного цикла, при пост-аноксическом окислительном стрессе

Приказюк Егор Геннадьевич

Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург, prikaziuk@mail.ru

В настоящее время одной из ключевых проблем биологии растений является изучение адаптаций этих организмов к изменениям условий окружающей среды. Довольно часто в результате таких изменений растения оказываются в условиях недостатка или отсутствия кислорода, которые затем сменяются окислительным стрессом при возвращении нормальной аэрации. Цель данного исследования – определить молекулярно-генетические механизмы регуляции аскорбат-глутатионного цикла, играющего центральную роль в формировании устойчивости риса к окислительному воздействию.

Был проведён анализ экспрессии генов, кодирующих цитоплазматические формы аскорбатпероксидаз (APx) и глутатионредуктаз (GR) риса (*Oryza sativa* var. *japonica*) под действием аноksии и последующей аэрации с помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР). Показано, что в побегах экспрессия генов аскорбатпероксидаз (*OsAPx*) поддерживалась на одном уровне, в то время как экспрессия генов глутатионредуктаз (*OsGR*) значительно возрасла (практически в три раза). В корнях же наблюдалось снижение уровня экспрессии как *OsAPx*, так и *OsGR*.

Было проведено сравнение изменений уровней активности ферментов и уровней экспрессии кодирующих их генов. Активность аскорбатпероксидазы не изменялась ни в побегах, ни в корнях, что говорит о важности этого фермента. Поддержание активности в побеге, по всей видимости, обусловлено стабильностью экспрессии генов, кодирующих цитоплазматические формы фермента, в то время как в корне уровень экспрессии исследованных генов значительно снижался. Вероятно, постоянство активности в корнях поддерживается либо за счет увеличения экспрессии генов, кодирующих нецитоплазматические изоформы, либо иными способами регуляции активности уже имеющегося количества фермента.

Для глутатионредуктазы в побегах наблюдалось поддержание активности, но увеличение экспрессии гена, скорее всего было связано с быстрым обновлением фермента, а в корнях – уменьшение активности, и почти полное затухание экспрессии. Вероятно, в корне в активность глутатионредуктазы больший вклад вносили нецитоплазматические формы фермента.

Таким образом, необходимо провести дальнейшее исследование связи экспрессии и активности всех генов, кодирующих рассмотренные ферменты, для выяснения механизмов устойчивости к недостатку кислорода, а также попытаться понять слабые места регуляции этого процесса у пшеницы с целью создания тестовых систем для селекционного отбора устойчивых к затоплению сортов.

Автор выражает благодарность доц. Емельянову Владиславу Владимировичу и проф. Чирковой Тамаре Васильевне.

Исследование механизмов фотопериодического и яровизационного контроля времени цветения растений рапса разного географического происхождения.

Савельева Екатерина Михайловна

РГАУ-МСХА им. К.А.Тимирязева, Россия, Москва, savelievaek@ya.ru

Для прохождения цветения в оптимальные сроки и выживания в условиях низкотемпературного стресса растения регулируют своё развитие с помощью адаптационных механизмов, реагирующих на изменение длины дня и температуры окружающей среды. Глубокое понимание работы этих механизмов у сельскохозяйственных культур должно помочь эффективно оптимизировать продукционный процесс.

В контролируемых условиях мы изучали реакцию растений рапса (*Brassica napus* L.) разного географического происхождения на различные фотопериодические и температурные условия.

Мы показали, что для рапса озимого сорта Северянин короткодневная экспозиция, следующая за длительной (от 6 недель), но незавершённой яровизацией, стимулирует переход растений к генеративной фазе развития. На коротком дне (фотопериод 12 ч) количество растений, перешедших к бутонизации после 6 и 8 недель яровизации, составляет ≈ 63 и 100 процентов, соответственно, а на длинном дне (фотопериод 18 ч) – только ≈ 31 и ≈ 38 процентов.

Для растений рапса низкоширотных сортообразцов, не имеющих облигатной потребности в яровизации (двуручки), короткий день, следующий за 8 неделями холодной экспозиции, ускоряет их развитие, по сравнению с длинным днём, сокращая стадию эвокации цветения. В отсутствие яровизирующего воздействия короткий день также оказывает стимулирующий эффект на развитие этих растений. Так, растения низкоширотных сортообразцов, выращиваемые на коротком дне после 1-2-недель длиннодневной экспозиции в начале их вегетации, быстрее переходят к генеративному развитию, чем выращиваемые на длинном дне в течение всего онтогенеза.

Таким образом, выращивание на коротком дне в сочетании с длительной низкотемпературной экспозицией ускоряет развитие исследуемых растений рапса как с облигатной, так и с факультативной потребностью в яровизации. Для растений рапса озимого сорта Северянин короткий день компенсирует недостаточную продолжительность низкотемпературной экспозиции и увеличивает относительную долю растений, переходящих к генеративному развитию. Для низкоширотных сортообразцов ускорение развития под действием короткого дня происходит уже после прохождения ими индукции цветения. Также можно говорить о том, что растения этих сортообразцов могут развиваться как длиннодневные растения или реализовывать стратегию, характерную для длиннокороткодневных растений в зависимости от фотопериода.

Влияние гена *hmg1* на рост трансгенных растений табака

Санаева Юлия Владимировна, Борцова Светлана Андреевна, Ермошин Александр Анатольевич

Уральский федеральный университет, Екатеринбург, Россия, julia.sanaeva@yandex.ru

Перспективным направлением современной биотехнологии растений является создание форм с повышенной биологической продуктивностью. Данная работа посвящена изучению роли гена *hmg1*, кодирующего фермент 3-окси-3-метил-глутарил-КоА редуктазу, в процессах роста трансгенных растений табака. Продукт гена *hmg1* отвечает за синтез мевалоновой кислоты и является ключевым ферментом в синтезе цитозольных изопrenoидов.

Работа проведена на трансгенных растениях табака *Nicotiana tabacum* L., экспрессирующих ген *hmg1* из *Arabidopsis thaliana* L. в прямой (С-линии) и обратной (А-линии) ориентациях относительно промотора CaMV 35SS, а также на контрольных растениях (К) и растениях, трансформированных пустым вектором (трансгенный контроль - ТК).

Растения выращивали в закрытом грунте. У листьев нижнего, среднего и верхнего ярусов в период обильного цветения растений определяли длину, площадь и сухую массу. Также были определены высота растения и число листьев.

Отличий по высоте и числу листьев между трансгенными линиями и контролем не обнаружено.

Также не показано достоверных отличий в длине листа у растений нижнего яруса (К 23 см, ТК 24 см, А-линии 23-26 см, С-линии 24.5-25.5 см). Однако у листьев среднего и верхнего ярусов растений С-линий наблюдалась большая по сравнению с другими растениями длина листа (средний ярус: К 25.8 см, ТК 23.5 см, А-линии 22.5-25.2 см, тогда как С-линии 28-30.7 см; верхний ярус: К и ТК 18 см, А-линии 16.6-18.5 см, тогда как С-линии 21,5-23,5 см).

Площадь листа у листьев нижнего яруса растений С-линий больше по сравнению с другими растениями (К 320 см², ТК 331.5 см², А-линии 227-358.5 см², тогда как С-линии 377.5-389.5 см²). Площадь листьев среднего яруса у растений С-линий (384.2-456.3 см²) больше по сравнению с К и ТК (359.7 см² и 335 см²), тогда как у растений А-линий – меньше (255.3-315.3 см²). У листьев верхнего яруса растений С-линий площадь больше (202-265 см²) по сравнению с К и ТК (154.5 см² и 167 см² соответственно); у растений А-линий наблюдали тенденцию к уменьшению площади листа (128-144 см²).

Сухой вес листьев нижнего яруса у всех растений существенно не отличался (К 1.15 г, ТК 1.25 г, А-линии 1.31-1.29 г, С-линии 1.25-1.3 г). Однако сухой вес листьев среднего яруса у растений А-линий меньше чем в контроле (0.18 и 0.23 г соответственно), тогда как С-линии имеют наибольший сухой вес (0.44-0.68 г). Сухой вес листьев верхнего яруса растений С-линий был увеличен по сравнению с другими растениям (К 0.73 г, ТК 0.67 г, А-линии 0.65-0.68 г, тогда как С-линии 1.08-1.12 г).

Таким образом, растения С-линий характеризуются большей длиной и площадью листа, а также большим сухим весом листьев, причем на верхних, более молодых, листьях данная закономерность выражена сильнее, чем на более старых нижних. Трансгенные контрольные растения по изученным параметрам не отличались от нетрансгенного контроля. Данные результаты могут быть полезны для практики сельского хозяйства, т.к. экспрессия гена *hmg1* может увеличить биологическую продуктивность растений и влиять на размер хозяйственно-ценных органов.

Эффективности протекторного действия предобработки семян ржи цитодефом при окислительном стрессе молодых растений.

Семенова Алина Сергеевна

*Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, г. Саранск, Россия,
alinabio@mail.ru*

Большое значение в современных исследованиях уделяется защите растений от влияния стрессовых факторов путем обработки регуляторами роста. Особое место среди них занимают регуляторы роста цитокининовой природы. Для многих из них выявлено положительное влияние на культурные растения при стрессе в условиях полевого опыта, однако не рассмотрены биохимические аспекты их действия. Целью данной работы являлось определение влияния предобработки семян озимой ржи сорта «Эстафета Татарстана» препаратом цитодеф, в малых концентрациях проявляющего цитокинин-подобные эффекты, на активность аскорбатпероксидазы (АПО) и перекисное окисление липидов (ПОЛ) в молодых растениях при окислительном стрессе. Семена замачивали в течении 8 ч в растворах цитодефа (10^{-8} - 10^{-11} М/л) и выращивали в водной культуре на среде Кнопа. Окислительный стресс вызывали обработкой 7-дневных растений гербицидом паракват (100 мкМ). Измерения проводили спустя 1, 2, 3 суток после обработки гербицидом. Все группы растений, обработанные цитодефом, имели большую интенсивность процессов ПОЛ относительно водного контроля (ВК), однако в последствии обработки паракватом эти растения имели более низкое содержание малонового диальдегида (МДА), чем ВК, обработанный гербицидом. Одновременно выявлена линейная зависимость

снижения содержания МДА от уменьшения концентрации регулятора, с минимальным содержанием МДА в варианте 10^{-11} М/л цитодеф (39% от ВК). Максимальное содержание МДА при обработке паракватом – в варианте 10^{-8} М/л цитодефа (123% к ВК). Эта тенденция сохранялась во все дни измерений, с наиболее выраженным протекторным эффектом предобработки семян цитодефом в концентрациях 10^{-9} – 10^{-11} М/л спустя 1 и 3 суток после обработки гербицидом. Активность АПО в группах с предобработкой цитодефом была ниже ВК на 6–20% во все дни измерений для всех концентраций. Однако при обработке паракватом активность АПО в этих группах была выше, чем в группе ВК, обработанного гербицидом, с максимальным повышением спустя 1 сутки после обработки 10^{-9} М/л цитодефом (на 207%). Таким образом, предобработка семян ржи низкими концентрациями регулятора роста оказала выраженный протекторный эффект на молодые растения, подвергнутые окислительному стрессу, что проявлялось в снижении содержания МДА и повышении активности АПО.

**Динамика жирнокислотного состава
отдельных фракций липидов женских сережек березы повислой
Серебрякова Оксана Сергеевна**

Институт леса Карельского научного центра РАН, 531521@mail.ru

В процессе формирования генеративных органов происходит усиленный синтез нуклеиновых кислот, изменяется гормональный статус, а также состав синтезируемых белков, повышается активность ферментов и т.п. Гораздо хуже изучены метаболические изменения в липидном обмене.

Основными объектами изучения были 30–40-летние деревья березы повислой *Betula pendula* Roth, произрастающие в южной части Республики Карелия (61°79' с.ш., 34°35' в.д.). Материалом для исследования служили женские сережки, сбор которых проводили в соответствии с фазами их развития в весенне-летний период (с мая по июль):

Метиловые эфиры жирных кислот получали путем перэтерификации липидов метанолом в присутствии ацетилхлорида и анализировали на газо-жидкостном хроматографе «Хроматэк – Кристалл 5000 М.1».

Согласно полученным данным, женские сережки березы повислой в весенне-летний период характеризовались довольно высоким содержанием липидов, представленных как нейтральными липидами, так и полярными (фосфо- и гликолипидами), однако их количество менялось в соответствии с фазами их развития. До опыления в женских пестичных цветках происходило накопление насыщенных жирных кислот. По всей вероятности, пестичные цветки, как и пыльца, к моменту оплодотворения имеют низкую физиологическую активность. После оплодотворения формирование зародыша сопровождалось активизацией метаболических процессов, связанных с увеличением уровня ненасыщенных жирных кислот, содержащих преимущественно 18 атомов углерода в цепи с различным числом и положением двойных связей. Во всех фракциях содержание олеиновой и линолевой кислоты было выше по сравнению с линоленовой, но их соотношение несколько различалось в зависимости от фракции липидов и фазы развития плодовой сережки.

Таким образом, впервые исследован жирнокислотный состав отдельных фракций липидов женских сережек березы повислой в соответствии с фазами их весенне-летнего развития. Установлено, что до опыления в пестичных цветках нейтральные липиды превышали содержание фосфо- и гликолипидов почти в два раза, при этом во всех фракциях отмечали накопление насыщенных жирных кислот. После оплодотворения активизация метаболических процессов в женских сережках сопровождалась увеличением фосфо- и гликолипидов на фоне повышения доли ненасыщенных жирных кислот, преимущественно за счет моно- и/или диеновых.

Сахарозосинтаза зародышевых осей *Pisum sativum* L. как мишень аммонийного сигналинга

Чемоданов Евгений Николаевич, Никитин А.В.

Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, агрономический факультет, Москва, Россия, evgeniy11021991@yandex.ru

Сахароза – главная транспортная форма и основной источник углерода для метаболизма, связанного с усвоением минерального азота растениями. В последние десятилетия показано, что нитрат и аммоний являются не только субстратами автотрофного питания, но и выполняют важнейшие сигнальные функции, рекрутируя экспрессию более половины генома, определяющую взаимодействие углеродного и азотного обмена. Однако до сих пор не ясно, входит ли в круг мишеней информационного действия NH_4^+ стартовый фермент метаболизма сахарозы – сахарозосинтаза (СС). Цель работы состояла в выявлении возможного эффекта NH_4^+ как сигнального агента в регуляции СС проростков гороха, находящихся на самой ранней стадии развития — начала роста зародышевых осей.

В опытах были использованы как субстратные (5,0; 7,5; 10; 20 мМ), так и сигнальные (0,1; 0,25; 0,5; 1,0; 2,5) концентрации NH_4^+ в форме $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Семена в возрасте 24 час от замачивания переносили на растворы с указанными концентрациями. Контролями служили прорастающие семена на растворах K_2SO_4 с эквивалентными концентрациями K^+ . Активность СС определяли в выровненных по размеру (7–8 мм) зародышевых осях через 48 часов от замачивания семян. Массу зародышевых осей измеряли в тот же срок, отбраковывая дефектные экземпляры.

Показано, что при всех испытываемых субстратных концентрациях NH_4^+ вызывал увеличение активности СС более чем на 100%. Стимулирующее действие иона имело место и при сигнальных концентрациях: при 0,1 мМ - на 25%, с последующим ростом до 50%-ного максимума при 0,25 мМ. В опытах *in vitro* при инкубировании фермента в среде с NH_4^+ выявлена также активация СС с максимумом в 35% при 20 мМ. Из этого следует, что *in vivo* могут иметь место сигнально-опосредованные процессы, связанные как с индукцией, так и/или посттрансляционной модификацией ферментного белка. Характер концентрационной зависимости позволяет также предположить рецепцию NH_4^+ его транспортёрами, например, АМТ 1.1. В сигнальных концентрациях аммоний вызывал увеличение массы зародышевых осей на 15–30%, тогда как в субстратных не оказывал отчётливого действия на биометрические показатели.

С учетом того, что функциональное назначение аммонийзависимой активации СС связано с процессами интенсификации утилизации сахарозы на стартовый рост проростков и ассимиляции NH_4^+ предлагаются практические рекомендации по припосевному внесению азотных удобрений в дозах, соответствующих сигнальному эффекту.